

دراسة تأثير مستخلصات جذور الزنجبيل على الأحياء المجهرية

اسوان حمدالله البيار نضال محمد صالح اسماء صباح احمد
قسم علوم الأغذية والتقانات الأحيائية/ كلية الزراعة / جامعة بغداد

المستخلص

جرى تحضير عدة مستخلصات من جذور الزنجبيل شملت المستخلص المائي والمستخلص الكحولي والمستخلص المائي مع استخدام السليوليزات المنتجة من عفن *Aspergillus* ، والمستخلص المائي بطريقة الاستخلاص المعاكس . درس تأثير هذه المستخلصات تجاه بعض الأحياء المجهرية *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* و *Bacillus cereus* و *E. coli* و *Salmonella typhimurium* . قدرت الفعالية المضادة للأحياء المجهرية بطريقة *Disc diffusion assay* ، اظهرت النتائج ان المستخلص المائي للزنجبيل قد اظهر تأثيراً تثبيطياً تجاه بكتريا *Staphylococcus aureus* و *E. coli* بتركيز 100 ملغم/مل وبمعدل قطر تثبيط النمو 7.5 و 6.0 ملم على الترتيب . وكذلك اظهر هذا المستخلص تأثيراً تثبيطياً تجاه *P. aeruginosa* و *Candida albicans* وبتراكيز 25 و 50 و 100 ملغم/مل ، وكان اعلى تأثير هو تجاه *C. albicans* حيث بلغ معدل التثبيط 9 ملم ، ولم يؤثر المستخلص المائي في بكتريا *Salmonella typhimurium* و *Bacillus cereus* . اما المستخلص الكحولي فكان له اعلى تأثير تثبيطي على بكتريا *Staphylococcus aureus* وبمعدل 10.5 ملم ، فضلاً عن تأثيره على *P.aeruginosa* و *C. albicans* و *S. typhimurium* و *E. coli* ، ولم يؤثر المستخلص الكحولي في بكتريا *Bacillus cereus* . اما استخدام السليوليزات فقد ادى الى استخلاص مركبات مثبطة لجميع الأحياء المجهرية الاختبارية قيد البحث ، اظهر المستخلص النباتي الناتج من الاستخلاص المعاكس فعالية مضادة تجاه جميع الأحياء المجهرية قيد البحث عدا بكتريا *E. coli* فلم يعط اي تأثير تثبيطي . نستنتج من ذلك ان استخدام السليوليزات في عملية الاستخلاص يساعد في زيادة المركبات المستخلصة من النباتات لأنها تقوم بتفكيك الخلايا النباتية السليولوزية نتيجة لتحليل السليولوز مما يساعد على خروج واستخلاص مركبات اكثر من داخل الخلايا خصوصاً تلك المثبطة للأحياء المجهرية . ويمكن استخدام مستخلص الزنجبيل كمضاد للأحياء المجهرية لحفظ الأغذية من التلف والفساد بهذه الأحياء .

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences

Alani et al.

STUDYING THE EFFECT OF GINGER ROOTS EXTRACTS ON MICROORGANISMS

Aswan H.A. Alani Nidhal M. Salih Asmaa S. Ihmed

Dept. of Food Science and Biotechnology/ College of Agriculture/ Univ. of Baghdad

Abstract

Many extracts were achieved from ginger roots included water extract, alcoholic extract, water extract with cellulases produced by *Aspergillus*, and water extract by reflux extraction method. Their effects against some microorganisms such as *Salmonella typhimurium*, *E. coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* were studied. Antimicrobial activity was estimated by *Disc diffusion assay*. Results were showed that the water extraction of ginger had an antimicrobial effects against *E.coli* and *Staphylococcus aureus* at concentration 100 mg/ml. The average diameter for inhibition zones were 7.5 and 6.0 mm. respectively, also it was shown an antimicrobial effects against *P.aeruginosa* and *Candida albicans* at concentrations 25,50 and 100 mg /ml . The highest effect was found against *C. albicans*, which the average diameter for inhibition zone was 9 mm. On the other hand *S. typhimurium* and *B. cereus* were not effected by this extract. The alcoholic extract had the highest antimicrobial effect against *Staph. aureus* with average diameter 10.5mm, beside its effect against *P.aeruginos*, *C. albicans*, *S. typhimurium* and *E. coli*, but there was no effect against *B.cereus*. Using cellulases for rapture the cell wallis cause the extraction of more antimicrobial compounds and the reflex condense extract had an antimicrobial activity against all the microorganisms tested in this study except *E. coli*. In conclusion, using of cellulases in extraction supports increasing the extracted compound especially antimicrobial compounds from plants because of their cellulolytic effect on plant cells, so we can use ginger extraction as an antimicrobial agent to keep food from spoilage and deterioration.

* تاريخ استلام البحث 2006/5/6, تاريخ قبول البحث 2007/6/11

المقدمة

ان تلف الأغذية وما يصاحبه من خسائر مادية اضافة الى تسبب المرض للانسان يعد من اهم صعوبات الحياة اليومية ، ولتجنب هذه الحالة تضاف بعض المواد الحافظة الصناعية مثل حامض السوربيك والبنزويك والبروبونيك في الصناعات الغذائية ، وبسبب كثرة هذه المواد وتراكمها قد يسبب امراضاً سرطانية اتجه الباحثون الى ايجاد مواد آمنة تضاف الى الغذاء محققة الغرض ذاته في الحفاظ على الأغذية من التلف بالأحياء المجهرية وذلك باستعمال اعشاب طبيعية تحتوي مستخلصاتها على المواد الحافظة على ان تكون هذه المستخلصات لها المقدرة على منع نمو الأعفان والخمائر والبكتريا على ان لا تضيف طعماً مختلفاً لا يتلائم مع المنتج ، والزنجبيل واحد من هذه الأعشاب الطبيعية وهو يستعمل بكثرة في كثير من بلاد العالم خاصة مع اللحوم وبعض الحلويات (15) .

الزنجبيل *Zingiber officinale* من عائلة *Zingiberaceae* هو نبات ينبت تحت التربة وهو عروق عقدية ولونه سنجابي او ابيض مصفر وله رائحة نفاذة مميزة طيبة يعرف بيا وهو حار الطعم لاذع (5). ويظهر الزنجبيل فعالية مضادة لعدد كبير من الأحياء المجهرية المرضية بسبب احتوائه على بعض المواد مثل الكليكوسيدات والسابونين والزيوت الطيارة التي تمتلك فعالية مضادة للأحياء المجهرية فمثلاً مجموعة الكليكوسيدات السابونية تعطي عند تحللها جزءاً غير سكري معروف بالسابونين Saponin وهو منشط بكثرة في الطبيعة وهو مادة صلبة غير متبلورة تذوب في الماء (4)، وبعض الكليكوسيدات تحرر مركبات مضادة للأحياء المجهرية بواسطة انزيم β -glucosidase لتكوين المركب الوسيط iridoid والذي يتكسر على التوالي الى dialdehyde (13).

هدف هذا البحث الى استخلاص المواد المضادة للأحياء المجهرية من جذور الزنجبيل بالماء والكحول وباستعمال السليوليزات وملاحظة مدى تأثير المواد المستخلصة في الأحياء المجهرية قيد الدراسة .

المواد وطرائق العمل

الاستخلاص المائي :

جرى الاستخلاص المائي لمسحوق جذور الزنجبيل وفقاً لطريقة Pin-Der و Gow-chin (16) بأخذ 20 غم من المسحوق و اضيف اليه 600 مل ماء مغلي لمدة 10 دقائق بعدها تم ترشيح المزيج وبخر الراشح تحت ضغط مخلخل في درجة اقل من 70°م باستعمال جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator وتجفيفها بأطباق زجاجية في فرن كهربائي بدرجة حرارة 40°م ، تم تحضير محلول اساس من المستخلص الخام المجفف بتركيز (100 ملغم/مل) حيث تم وزن 10 غم من المستخلص المجفف واذيب في 10 مل من الماء المقطر وعقم بمرشحات مايكروية واستعمل في قياس الفعالية المضادة للأحياء المجهرية .

الاستخلاص الكحولي :

جرى الاستخلاص الكحولي لمسحوق جذور الزنجبيل باتباع طريقة Harborne (9) والموصوفة من قبل الجنابي (1) . اخذ 100 غم من مسحوق جذور الزنجبيل و اضيف لها 500 مل كحول ايثيلي 80% وبعد مزجها بالمزج المغناطيسي لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 30°م رشح المستخلص بواسطة قمع بخر . واعيد الاستخلاص ثلاث مرات متتالية بعد كل 24 ساعة بالكحول الأيثيلي 80% ثم تم تركيزه بالمبخر الدوار بدرجة 40-45°م ، وجرى تجفيفه كما في المستخلص المائي .

الاستخلاص المعاكس Reflex extraction :

جرت عملية الاستخلاص المائي باستعمال مكثف معاكس Reflex condenser كما ذكر في المستخلص المائي . استعمال السليوليزات في تحضير المستخلصات المضادة للأحياء المجهرية :

استعملت السليوليزات Cellulases المنتجة من العفن *Aspergillus sp.*(A₁₈) بشكل مستخلص خام (2) في تحضير مستخلصات الزنجبيل الحاوية على المواد المضادة للأحياء المجهرية وذلك حسب الطريقة التي اتبعها Nguyen وجماعته (15) . حيث اضيف أنزيم السليوليز

المستخلص المائي في بكتريا *Salmonella typhimurium* و *Bacillus cereus* .

اما المستخلص الكحولي فكان له اعلى تأثير تثبيطي على بكتريا *Staphylococcus aureus* وبمعدن 10.5 i من ، فضلاً عن تأثيره على *P. aeruginosa* و *C. albicans* و *S. typhimurium* و *E. coli* ، ولم يؤثر المستخلص الكحولي في بكتريا *Bacillus cereus* ، وفي دراسات عديدة لأعشاب ذات أصل اردني أظهرت أيضاً فعالية ضد بكتريا *P. aeruginosa* (6) ، وتتفق نتائج هذه الدراسة مع ماتوصلت اليه الجنابي (1) من امتلاك المستخلص الكحولي لثلاث نباتات من العائلة الصليبية ذات المحتوى الكلوكوسينولي وهي الجنبيرة والحويرة والجرجير لفعالية مضادة تجاه بكتريا *P. aeruginosa* ويتضح انها الأكثر حساسية تجاه مثل هذه المستخلصات لنباتات العائلة الصليبية وقد يعود ذلك لفعل ونوع المركبات الموجودة فيها . لقد اتفقت نتائج هذه الدراسة مع نتائج Kandil وجماعته (11) في كون اعلى تأثير تثبيطي للمستخلص الكحولي كان تجاه بكتريا *Staphylococcus aureus* ، وذكر ان المستخلص الكحولي ليس له تأثير في *E. coli* بينما كان المستخلص الكحولي قيد الدراسة له تأثير واضح في *E. coli* وهذا قد يكون بسبب تركيز الكحول المستعمل في التجربة إذ يمكن ان يعزى تنوع التأثير التثبيطي للمستخلصات الكحولية الى الاختلاف في المكونات المستخلصة من النبات فقد ذكر Harborn وجماعته (10) ان الكحول الأثيلي 70% ذو فطبية عالية فهو يستخلص جميع المركبات فضلاً عن المركبات المعقدة كالقلويدات والستيرويدات والصابونيات التربينية . وكذلك توصل Ayoub (7) الى ان المستخلص الكحولي 95% لبعض النباتات الليلية يمتلك فعالية مثبطة لنمو بعض الأحياء المجهرية المرضية الموجبة والسالبة لصبغة كرام وهذا يتفق ايضاً مع مذكرته العوادي (3) عن التأثير التثبيطي لمستخلص نبات الكاما الكحولي تجاه بكتريا *Staphylococcus aureus* وغيرها بتركيز 50 ملغم/مل وقد يرجع هذا التأثير لوجود الفلافونيات والصابونيات والكليكوسيدات (12) . وفي دراسة لتأثير المستخلص الخام البيوتانولي والايثانولي والمائي للأجزاء الهوائية لعشرة نباتات

بنسبة 1% لمدة 24 ساعة لغرض تفكيك الخلايا السليوزية ثم جرت عملية الاستخلاص كما في الاستخلاص المائي .

طريقة تقدير الفعالية المضادة للأحياء المجهرية :

جرى تقدير الفعالية المضادة للأحياء المجهرية بطريقة Disc diffusion assay المذكورة من قبل Faleiro وجماعته (8) ، حيث تم تحضير اطباق (بترى) تحتوي على 15 مل من وسط الأكار المغذي المزروع بالأحياء المجهرية ولقحت بالمزارع الميكروبية السائلة والمنشطة وبطريقة التلقيح السطحي surface inoculation ، وضعت عليها اوراق ترشيح بشكل discs قطرها 4 ملم حاوية على 10 مايكرو لتر من المستخلص النباتي بأربع تراكيز هي 12.5 ، 25 ، 50 ، 100 ملغم/مل . حضنت الأطباق في الحاضنة لمدة 24 ساعة بدرجة 37°م . وتم حساب قطر المنطقة الخالية من النمو (Zone of growth inhibition) (بالملم) للتعبير عن النتائج .

مزارع الأحياء المجهرية :

استعملت مجموعة من الأحياء المجهرية المعروفة حيث تم تنشيطها قبل استعمالها في هذا البحث وهي : *Salmonella typhimurium* و *E. coli* و *Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Candida albicans* .

النتائج والمناقشة

يوضح الجدول رقم (1) الفعالية التثبيطية للأحياء المجهرية قيد الدراسة للمستخلص المائي والكحولي، حيث يلاحظ ان بعض الأحياء غير حساسة للمركبات المستخلصة من الزنجبيل وهذا قد يعني امتلاك هذه الأحياء ميكانيكية خاصة لمقاومة المواد الموجودة في المستخلص . ويمكن ملاحظة ان المستخلص المائي للزنجبيل قد اظهر تأثيراً تثبيطياً تجاه بكتريا *E. coli* و *Staphylococcus aureus* بتركيز 100 ملغم/مل وبمعدل قطر تثبيط النمو 7.5 و 6.0 ملم على التوالي . وكذلك اظهر هذا المستخلص تأثيراً تثبيطياً تجاه *P. aeruginosa* و *Candida albicans* وبتراكيز 25 و 50 و 100 ملغم/مل ، وكان اعلى تأثير هو تجاه *C. albicans* حيث بلغ معدل التثبيط 9 ملم ، ولم يؤثر

المركبات المستخلصة من النباتات لأنها تقوم بتفكيك الخلايا النباتية السليولوزية نتيجة لتحليل السليولوز مما يساعد على خروج واستخلاص مركبات أكثر من داخل الخلايا خصوصاً تلك المثبطة للأحياء المجهرية (15) ويعد هذا من التطبيقات المهمة للسليوليزات الناتجة من الأحياء المجهرية وخصوصاً الأعفان . اما المستخلص النباتي الناتج من الاستخلاص المعاكس فقد اظهر فعالية تثبيطية تجاه جميع الأحياء المجهرية قيد الدراسة ماعدا بكتريا *E. coli* فلم يعط اي تأثير تثبيطي .

اظهرت هذه النباتات درجات مختلفة من الفعالية المضادة للأحياء المجهرية ضد اربعة انواع من البكتريا ونوعين من الفطريات وكان للمستخلصات المائية اوطأ فعالية مضادة (14) .

اما الجدول رقم (2) فيوضح المقارنة بين الفعالية التثبيطية للأحياء المجهرية قيد الدراسة للمستخلص بطريقة السليوليزات والمستخلص بطريقة الاستخلاص المعاكس ، حيث يلاحظ ان استعمال السليوليزات يؤدي الى استخلاص مركبات مثبطة لجميع الأحياء المجهرية الاختبارية قيد الدراسة مقارنة بالجدول رقم (1) ، مما يؤكد اهمية استعمال السليوليزات في عملية الاستخلاص إذ تساعد في زيادة

الجدول (1) تأثير المستخلص الكحولي والمائي للزنجبيل في تثبيط الأحياء المجهرية قيد الدراسة بطريقة الأقراص

معدل قطر مناطق تثبيط النمو(مم)		تركيز المستخلص (ملغم/مل)	الكائن المجهري
المستخلص المائي	المستخلص الكحولي		
--	--	12.5	<i>E. coli</i>
--	5	25	
--	6.25	50	
7.5	8.5	100	
--	--	12.5	<i>Salmonella typhimurium</i>
--	--	25	
--	6	50	
--	8	100	
--	--	12.5	<i>Bacillus cereus</i>
--	--	25	
--	--	50	
--	--	100	
--	--	12.5	<i>Staph. aureus</i>
--	--	25	
--	9.25	50	
6	10.5	100	
--	8.5	12.5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
4	7	25	
5	5.75	50	
6	5	100	
--	--	12.5	<i>Candida albicans</i>
6	6	25	
8	7.5	50	
9	8.5	100	

الجدول (2) تأثير مستخلص الزنجبيل بطريقة التكتيف المعاكس و باستعمال السليوليزات في تثبيط الأحياء المجهرية قيد الدراسة بطريقة الأقراص

معدل قطر مناطق تثبيط النمو (مم)		تركيز المستخلص (ملغم/مل)	الكائن المجهري
طريقة السليوليزات	التكتيف المعاكس		
4.5	--	12.5	<i>Salmonella typhimurium</i>
6	6	25	
7	7.5	50	
8.75	9	100	
4	--	12.5	<i>E. coli</i>
6.5	--	25	
7	--	50	
8	--	100	
--	--	12.5	<i>Bacillus cereus</i>
5	5.5	25	
6	6	50	
7	8	100	
--	--	12.5	<i>Staph. Aureus</i>
--	6	25	
6	6.5	50	
8	9	100	
--	3	12.5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
4	5	25	
6	6.5	50	
7	7.5	100	
4	4.5	12.5	<i>Candida albicans</i>
6	6	25	
7	8	50	
7.5	10	100	

الطبية المحلية وأهميتها كمضادات حيوية . رسالة ماجستير -

كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد ، ص 72-77 .
4- طه ، فوزي قطب . 1981 . النباتات الطبية ، زراعتها ومكوناتها . دار التمريخ للنشر . الرياض - السعودية ، ص 83 .

5- Alternative Medicine Review, Volume 8. No. 3, 2003. Thorn Research, Inc. (Internet).

6- Al-Astal, Zy., A. Ashour and A. Korit.2005. Antimicrobial activity of some medicinal plant extracts in Palestine. Pak. J. Med. Sci., 21(2): 187-193.

7- Ayoub,S.M.H. 1986.Antimicrobial of Libyan medicinal plants. Planta Medica., 55:650-651.

8- Faleiro, L., G.M. Miguel, C.A.C. Guerrero and J.M.C. Brito.1999.Antimicrobial activity of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L.,

المصادر

1- الجنابي ، نضال محمد . 2004. تأثير بعض المستخلصات النباتية كمضادات للأحياء المجهرية ومضادات أكسدة وتطبيقها في بعض الأنظمة الغذائية - اطروحة دكتوراه - قسم علوم الأغذية والتقانات الاحيائية- كلية الزراعة/ جامعة بغداد ، ص 38- 78 .

2- العاني ، اسوان حماد عود البيار . 2005 . انتاج السليوليزات من *Aspergillus sp.* المعزول محلياً ودراسة بعض خصائصها واستعمالاتها التطبيقية . اطروحة دكتوراه - قسم علوم الأغذية والتقانات الاحيائية- كلية الزراعة / جامعة بغداد ، ص 40-46 .

3- العوادي ، سلوى جابر عبدالله . 1993 . دراسة الفاعلية المضادة لنمو الجراثيم والقابلية للتطهيرية لبعض الأعشاب

- 13- Kubo.A., S.L. Christopher, and Isaokubo. 1995. Antimicrobial activity of the olive oil flavor compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 43 : 1629- 1633.
- 14- Mahsneh.M. 2002. Screening of some indigenous Qatari medicinal plants for antimicrobial activity. *Phytother Res.*, 16(8) : 751- 753.
- 15- Nguyen, V.C., K. Tadao, K. Hiromichi, and F.M. Massao. 1982. Antimicrobial activity of Kumozasa (*Sasa albomarginata*). *Agric. Biol. Chem.*, 46(4) : 971- 978.
- 16- Pin-Der,D. and Y. Gow-chin. 1997. Antioxidative activity of three herbal water extracts. *Food Chemistry*, 60(4) : 639- 645.
- Thymus mastichina* (L) L.spp mastichina and *Thymus albicans*. Hofmanns and Link. *Acta Hort.*, 501.1st IS.: 45-48.
- 9- Harbone, J. B. 1973. Phytochemical methods. Chapman and Hill, London. New York.
- 10- Harbone, J. B., T.J. Mabray and H. Mabry. 1975. Physiology and functions of flavonoids. Pp: 970-1042. *The flavonoids*. Academic Press. New York, San Fransisco.
- 11- Kandil,O., N.M. Radwan. A.B. Hassan, M. Aziza, M. Amer, H.A. El- Banna and M.M.A. Wafaa. 1994. Antimicrobial activity of *Nigella sativa* and *Zingber officinale* vrt. *Med. J. Giza.* 12(1) : 159-168.
- 12- Khalil.A.A. and Kh. Al- Samarai. 1989. Flavonoid and Saponin screening in Iraqi verbascum species. *Biol. Sci. Res.*, 5(1) : 2-12.